



TITLE:

腎細胞癌におけるE-カドヘリンの 発現と病理組織学的特性

AUTHOR(S):

金, 鉄雄; 笥, 善行; 諸井, 誠司; 吉田, 修

CITATION:

金, 鉄雄 ...[et al]. 腎細胞癌におけるE-カドヘリンの発現と病理組織学的特性. 泌尿器科紀要 1995, 41(9): 653-657

ISSUE DATE:

1995-09

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/115579>

RIGHT:

腎細胞癌における E-カドヘリンの発現と病理組織学的特性

京都大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 吉田 修教授)

金 鉄雄*, 笥 善行, 諸井 誠司, 吉田 修

E-CADHERIN EXPRESSION AND HISTOPATHOLOGICAL
FEATURES IN RENAL CELL CARCINOMAS

Tie-Xing Jin, Yoshiyuki Kakehi, Seiji Moroi and Osamu Yoshida

From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University

E-cadherin, a member of the cadherin family, plays a major role in cell-cell adhesion of normal epithelium. Recent studies have demonstrated that heterogeneous expression, reduction or loss of E-cadherin is involved in invasion and metastasis of cancer cells. In this study, the localization of E-cadherin in the normal human kidney and the relationship between E-cadherin expression and histopathological features in renal cell carcinomas was examined immunohistochemically. Renal cell carcinoma tissues and normal kidney counterparts were obtained from 20 patients. E-cadherin in the normal kidney was detected in the cell-cell border of the distal tubules, collecting duct and Bowman's capsule but not in the proximal tubules. E-cadherin expression was reduced in all the clear cell type renal cell carcinomas with compact or cystic configuration (n=15), while it was well preserved in all the papillary type (n=3) and chromophobe cell type (n=1) renal cell carcinomas. Different expression patterns between primary site and metastasis, i.e., homogeneously weak in primary tumor and heterogeneously positive in metastasis, was observed in a case of clear cell type renal cell carcinoma. Different patterns of expression between clear and non-clear cell type, or between papillary and non-papillary type, together with strong expression in chromophobe type might reflect the origin of each type of renal cell carcinoma. Further studies will clarify whether the change in expression of E-cadherin is associated with the prognosis of renal cell carcinoma.

(Acta Urol. Jpn. 41: 653-657, 1995)

Key words: E-cadherin, renal cell carcinoma, histopathological features

緒 言

カルシウム依存性の細胞間接着因子の一つである E-カドヘリンは正常上皮細胞での細胞間接着に重要な役割を果たすほか、個体の発生・分化段階においても重要な役割を演じていることが知られている¹⁾。一方、癌化の過程での発現の減弱・消失などの異常が癌細胞の浸潤・転移に関連する可能性が胃癌・食道癌・乳癌・膀胱癌などで報告されている²⁻⁴⁾。今回、われわれは抗ヒト E-カドヘリン抗体を用いて、正常腎実質および腎細胞癌に対する免疫組織学的解析を行い、特に腎細胞癌の病理組織学的亜分類と E-カドヘリンの発現様式との関連について興味ある知見をえたので報告する。

対象および方法

対象は1994年3月から1995年1月の間に、京都大学医学部附属病院または関連施設にて腎全摘除術または部分切除術をうけた腎細胞癌20症例である。男子16例、女子4例で年齢は20~90歳(平均54.9歳)で、うち2症例は von Hippel Lindau 病に合併した腎細胞癌であった。新鮮手術標本を OCT compound (Miles scientific) に包埋し-80°C に冷却した n-ヘキサン中で凍結した。これを 3~4 μm に薄切し60分間風乾後、10分間アセトン固定した後、酵素抗体法により免疫組織染色を行った。一次抗体として使用した抗ヒト E-カドヘリンモノクローナル抗体 HECD-1 は、J.A. Schalken (Nijmegen 大学, オランダ) より供与されたものを用いた。酵素抗体法は LSAB 法⁵⁾ (DAKO 社製キット) により行い、洗浄液は0.1

* 現: 中国吉林省延边医学院附属医院

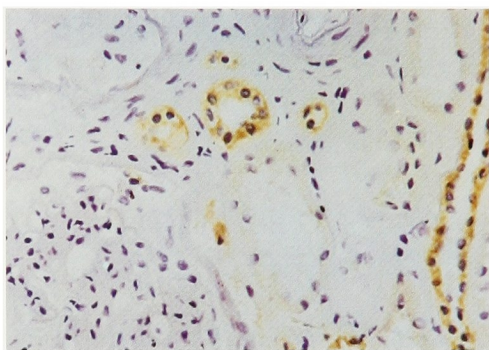


Fig. 1. Immunohistochemical staining of E-cadherin in adult normal kidney tissue. The distal tubules and cortical collecting ducts are positively stained but the proximal tubules are not stained (reduced from $\times 200$).

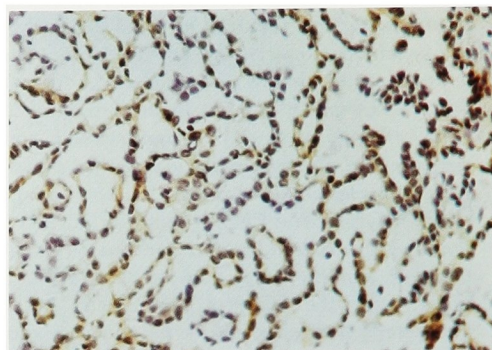
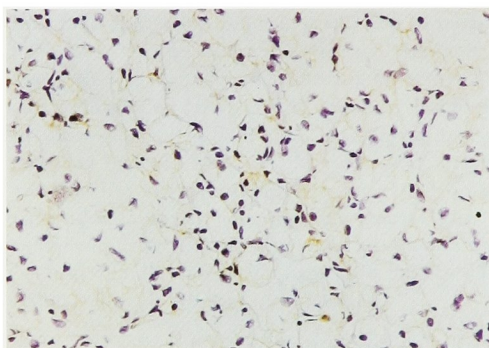
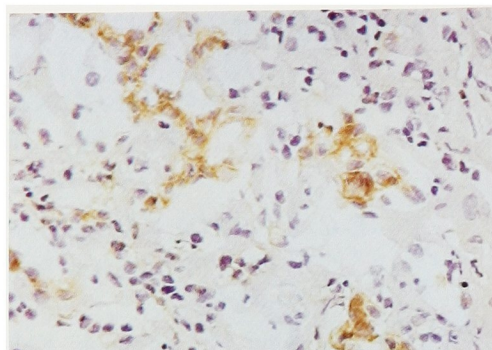
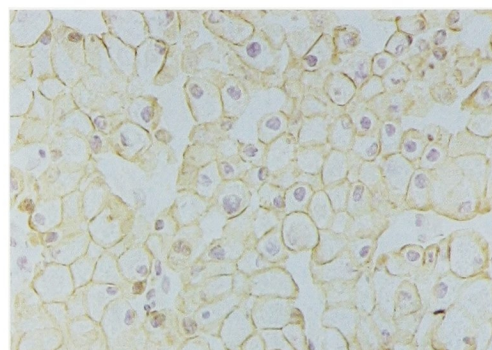


Table 1. Relationship between E-cadherin expression and cell types or growth patterns in renal cell carcinomas (primary sites)

Cell type	Growth type	Pts no.	E-cadherin expression	
			Preserved	Reduced
Clear	Compact	4	0	4
	Acinar	9	0	9
	Cystic	2	0	2
Chromophilic	Papillary	3	3	0
	Acinar	1	0	1
Chromophobe	Acinar	1	1	0



mM CaCl₂ と 0.05 mM MgCl₂ を添加した PBS を使用し, ヘマトキシリンで核染色した. 当初は正常膀胱上皮組織および grade 1 の乳頭状移行上皮癌組織を陽性コントロールとしたが, 腎の遠位尿細管および集合管が選択的に HECD-1 と反応することを確認後は, 正常腎組織切片を各回の実験のコントロールとした. E-カドヘリンの発現は Shiozaki らの分類²⁾に従い, 染色性が一様でないものを heterogeneous, 一様であるが減弱しているものを weak and homogeneous, まったく染まらないものを lost とし, 以上3型をまとめて reduced とした. 一様に強く染まるものは preserved と判定した. 判定は2名の泌尿器科医 (T.J., Y.K.) が独立して行った. 腎細胞癌の組織学的細胞型 (cytological features) および構築型 (growth pattern) は Thoenes らの分類⁹⁾に従い, 病理組織学的異型度, 浸潤増殖様式, 病期 (pT) 分類は腎癌取り扱い規約⁷⁾に従った.

結 果

正常腎組織に関しては, 腎細胞癌に対して腎摘除術が施行された19例からえた担癌腎の正常部腎組織の凍結標本での E-カドヘリンの発現を検索したが, すべてのサンプルで遠位尿細管および集合管の特に cell-cell border で強く発現がみられた. Bowman 嚢に関しては発現のみられた標本と認められなかったものがあつた. 近位尿細管に関しては発現は認められなかった (Fig. 1). 腎細胞癌に関しては20例21組織標本 (原発巣20, リンパ節転移巣1) での E-カドヘリンの発現を解析した. 発現の解析結果の点で2名の判定結果は完全に一致した. 発現パターンを Thoenes らの分類による細胞型・構築型別にみると clear cell type ではE-カドヘリンの発現が構築型にかかわらず weak and homogeneous なものが多く (Fig. 2 に典型例を示す), 15例すべてが reduced に分類された (Table 1). 興味深い所見として, clear cell type の腎細胞癌の1例で, 原発巣は lost であったのに対して, リンパ節転移巣では一部で heterogeneous に強く発現する細胞群が散見された (Fig. 3). chromophilic type は4例が解析しえたが3例で preserved, 1例は reduced であった. preserved であった3例はすべて papillary type であった. Fig. 4 に chromophilic type で papillary type の腎細胞癌での E-カドヘリン染色を示す. 細胞膜だけでなく細胞質も染色されているようにみえる. chromophobe type に関しては1例が解析しえたが, 細胞膜がきわめて明瞭に染色された (Fig. 5). 病理組織学的異型度・浸潤増殖

Table 2. Relationship between E-cadherin expression and histological grade, infiltration patterns (INF) and pathological T-stages in renal cell carcinomas

	Grade			INF			pT	
	1	2	3	α	β	γ	2	3
E-cadherin expression								
Preserved	2	4	0	4	2	0	5	1
Reduced	3	10	1	8	5	1	9	5

様式・pT 分類と E-カドヘリンの発現との関係を Table 2 に示す. 高悪性度腫瘍の症例数が少ないため有意な相関は認められないが, grade 1 や INF α でも reduced の症例がそれぞれ60%および67%と高率であった.

考 察

細胞間接着因子としてのカドヘリンファミリーには E 型, P 型, N 型など10種類以上のサブクラスが報告されている. カドヘリンの細胞内ドメインはカテニンにより裏打ちされ, さらにビンキュリン, α アクチニンを介してアクチンに結合し強固な細胞接着を行っていると考えられている⁸⁾. E 型 (上皮型) カドヘリンは正常上皮細胞での細胞間接着に重要な役割を果たすほか, 個体の発生・分化段階においても重要な役割を演じているが, 多くの癌細胞においても細胞間接着に強く機能しているようである. 食道癌, 胃癌, 乳癌などにおいて E-カドヘリンの発現の減弱ないし消失と転移との関連が報告されている^{2,3)}. われわれは尿路上皮癌における E-カドヘリンの発現を解析し, high grade・high stage 症例で高率に発現の減弱や異常を認めている⁹⁾.

さて, 腎での E-カドヘリンの局在に関しては, Nouwen ら¹⁰⁾は L-CAM (E-カドヘリンの別称), A-CAM などの胎児腎および成人腎での発現を解析し, L-CAM (E-カドヘリン) は胎児腎では集合管, S-shaped body の上行脚および发育中の遠位尿細管に局在し, 成熟腎では集合管, 遠位尿細管のほか Bowman 嚢に局在を認めたのに対し, A-CAM は近位尿細管に局限していたと報告している. 今回のわれわれの解析でも成人の腎では集合管および遠位尿細管で選択的に E-カドヘリンの発現を認めた. Bowman 嚢に関しては全例ではなかったがやはり発現を認めた.

近年, Thoenes らの分類による腎細胞癌の各亜型が発生母地の違いをよく反映することが免疫組織化学的・細胞遺伝学的に証明されつつあるため¹¹⁾, 本研究

では細胞型と構築型に関しこの分類法に従い腎細胞癌での E-カドヘリンの発現を解析した。近位尿管細胞由来と考えられる clear cell type の腎細胞癌では E-カドヘリンの発現は、構築型にかかわらず全例 reduced であったのは発生母細胞で発現が見られないこととよく一致すると思われる。同様に近位尿管細胞由来とされる、chromophilic type に関しては compact type と papillary type で対照的な結果であった。papillary type と non-papillary type では染色体異常のパターンがまったく違い、発生に関与する癌抑制遺伝子が異なることが指摘されている¹²⁾。papillary type での E-カドヘリンの強い発現との関連については予後との関連を含め興味深い今後の検討課題と思われる。1例ではあったが、chromophobe type の腎細胞癌で細胞膜に局在した強い E-カドヘリンの発現を認めたことはこの type が皮質集合管由来であるとの説¹¹⁾を支持する所見であった。悪性度と E-カドヘリンの発現との関係については、今回の解析対象の過半数が clear cell type の腎細胞癌であったため、low grade や IFN- α の浸潤様式でも高率に発現の減弱を認める結果となり有意な相関は認めなかった。しかし、過半数の腎細胞癌で E-カドヘリンの発現が減弱している事実は、腎細胞癌の易転移性という生物学的特性を考える上で興味深いと思われる。E-カドヘリンの発現と転移の形成との関係は複雑で動的なものと考えられる。E-カドヘリンは原発巣からの離脱には発現の減弱や細胞接着装置全体の機能低下ないし異常が必要と考えられているが、転移巣の形成過程では逆に発現の回復ないし上昇が必要とされる¹³⁾。この点で clear cell type の腎細胞癌リンパ節転移巣でみられた不均一な発現は興味ある所見であった。

最近、Xiang ら¹⁴⁾はラット腎細胞癌 cDNA ライブラリーから新しいタイプの細胞間接着分子 K-カドヘリンをクローニングした。彼らはノザンプロット解析を行い、K-カドヘリンは、胎児ラットでは腎と脳で発現がみられたが生体では発現をほとんど認めなかった。一方、ヒトの clear cell alveolar type の腎細胞癌と Wilms 腫瘍で高い発現を認めたと報告している。今後、腎細胞癌の各組織学的亜型での E-カドヘリン、K-カドヘリンの発現パターンの差異や、浸潤・転移形成過程でのカドヘリンとカテニン分子の発現異常の相互関係の解明が明らかになるとと思われる。

結 語

ヒト腎および腎細胞癌組織における E-カドヘリン

の発現を免疫組織学的に解析した。腎細胞癌の組織学的亜型による発現の差はその発生母細胞での発現の有無によることが示唆された。

最後に本研究に対して助言を頂きました、京都大学医学部附属病院中央検査部山邊博彦先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Takeichi M: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251: 1451-1455, 1991
- 2) Shiozaki H, Tahara H, Oka H, et al.: Expression of immuno-reactive E-cadherin adhesive molecules in human cancers. *Am J Pathol* 139: 17-23, 1991
- 3) Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, et al.: Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res* 53: 1696-1701, 1993
- 4) Bringuier PP, Umbas R, Schaafsma HE, et al.: Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumors. *Cancer Res* 53: 3241-3245, 1993
- 5) Giorno R: A comparison of two immunoperoxidase staining methods based on the avidin-biotin interaction. *Diagn Immunol* 2: 161-166, 1984
- 6) Thoenes W, Störkel S and Rumpelt HJ: Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. *Pathol Res Pract* 181: 125-143, 1986
- 7) 腎癌取扱規約. 日本泌尿器科学会, 日本病理学会, 日本医学放射線学会編. 第2版, 金原出版, 東京, 1992
- 8) Tsukita Sh, Tsukita Sa and Nagafuchi A: The undercoat of adherens junction: a key specialized structure in organogenesis and carcinogenesis. *Cell Struct Funct* 15: 7-12, 1990
- 9) 川喜田睦司, 諸井誠司, 京谷京子, ほか: 尿路上皮癌における E-カドヘリンの発現と浸潤・転移の検討. *泌尿紀要* 40: 1077-1080, 1994
- 10) Nouwen EJ, Dauwe S, van der Biest I, et al.: Stage- and segment-specific expression of cell-adhesion molecules N-CAM, A-CAM, and L-CAM in the kidney. *Kidney Int* 44: 147-158, 1993
- 11) Thoenes W, Störkel S, Rumpelt R, et al.: Cytomorphological typing of renal cell carcinoma a new approach. *Eur J Urol* 18 (supple 2): 6-9, 1990

- 12) Kovacs G: The value of molecular genetic analysis on the diagnosis and prognosis of renal cell tumours. *World J Urol* **12**: 64-68, 1994
- 13) 竹市雅俊: 癌転移対策・転移機構に関するがん細胞の解析: がん細胞の接着と転移. *Oncologia* **26**: 149-156, 1993
- 14) Xiang Y-Y, Tanaka M, Suzuki M, et al.: Isolation of complementary DNA encoding K-cadherin, a novel rat cadherin preferentially expressed in fetal kidney and kidney carcinoma. *Cancer Res* **54**: 3034-3041, 1994
(Received on February 27, 1995)
(Accepted on May 16, 1995)